

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representation of
The original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

(19)



JAPANESE PATENT OFFICE

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number: 09152418 A

(43) Date of publication of application: 10 . 06 . 97

(51) Int. Cl

G01N 27/447
G01N 21/64

(21) Application number: 07311951

(22) Date of filing: 30 . 11 . 95

(71) Applicant: HITACHI LTD

(72) Inventor: ANAZAWA TAKASHI
TAKAHASHI SATOSHI
KANBARA HIDEKI

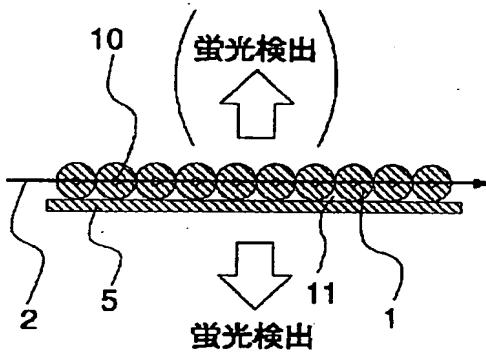
(54) CAPILLARY ARRAY ELECTROPHORETIC APPARATUS

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To accomplish an on-column fluorometry by performing a laser irradiation of a plurality of capillaries simultaneously in substance.

SOLUTION: A plurality of capillaries 1 are arranged on a plane of glass 5 and irradiated with a laser light 2 from the side of the array of the capillaries along the axis of the array. The capillaries act as convex lens depending on a relationship among the outer radius and the inner radius of the capillaries, the refractive index of a medium 11 outside the capillaries, the refractive index of the material 1 of the capillaries and the refractive index of the medium 10 inside the capillaries. The laser beam is focused repeatedly and travels through the array of the capillaries without diverting from the array axis of the capillaries. Thus, a sufficient laser power reaches the inside of the capillaries to allow simultaneous fluorometry thereby realizing a high sensitivity, a high speed and a high throughput.

COPYRIGHT: (C)1997,JPO



特開平9-152418

(43)公開日 平成9年(1997)6月10日

(51) Int.Cl.⁶
G 0 1 N 27/447
21/64

識別記号 庁内整理番号

厅内整理番号

F I
G O I N 27/26
21/64
27/26

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数32 O.L (全 21 頁)

(21)出願番号 特願平7-311951
(22)出願日 平成7年(1995)11月30日

(71) 出願人 000005108
株式会社日立製作所
東京都千代田区神田駿河台四丁目 6 番地
(72) 発明者 六沢 隆

東京都国分寺市東森ヶ窪1丁目280番地
株式会社日立製作所中央研究所内

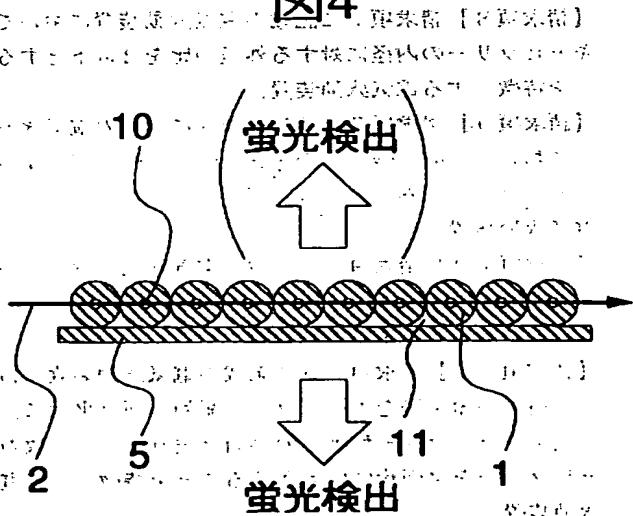
(72)発明者 神原秀記 東京都国分寺市東恋ヶ窪1丁目280番地
株式会社日立製作所中央研究所内
(74)代理人 弁理士 小川勝男

(54) 【発明の名称】 キャビラリーアレイ電気泳動装置

題(57):【要約】: とある場所で「販売税」を課せられ
る。【課題】: 複数のキャビラリーを実質的に同時にレーザー
を照射し、オンライン蛍光計測するキャビラリー・アレイ電
気泳動装置を提供する

【解決手段】複数のキャビラリー1をガラス5の平面上に配列し、配列の側方よりレーザ2を配列軸に沿って照射する。キャビラリーの外半径、内半径、キャビラリー外部の媒質1_1の屈折率、キャビラリーの材質1の屈折率、キャビラリー内部の媒質1_0の屈折率の間の関係により、キャビラリーは凸レンズ作用をもつ。レーザビームは繰り返しフォーカスされ、キャビラリーの配列軸から逸脱することなしにキャビラリーアレイ中を進行する。

【効果】各キャビラリー内部に十分なレーザパワーが到達し、同時蛍光計測が可能となり、高感度、高速、高スループットが実現できる。(図8を参照)



（本圖由蘇聯米諾夫的製圖師王立文繪製）
圖上半部是蘇聯軍隊在中國東北的進軍路線，圖中間是蘇聯軍隊在中國東北的進軍路線，圖下部是蘇聯軍隊在中國東北的進軍路線。

【特許請求の範囲】

【請求項1】少なくとも一部が平面状に配列された複数のキャピラリーにレーザを照射して、泳動する試料の成分を検出するキャピラリーアレイ電気泳動装置において、前記キャピラリーの内部が電気泳動分離媒体で満たされ、前記レーザが前記キャピラリーの配列方向に沿って前記複数のキャピラリーの透明部分が実質的に同時に照射され、前記キャピラリーが配列された配列体と交差する方向から、前記キャピラリーを泳動する前記試料成分を検出することを特徴とするキャピラリーアレイ電気泳動装置。

【請求項2】請求項1記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの断面が円形であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項3】請求項2に記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの外部が透明液体であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項4】請求項3に記載の電気泳動装置において、キャピラリーの内径に対する外径の比を1から7とすることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項5】請求項3に記載の電気泳動装置において、キャピラリーの内径に対する外径の比を3から5とすることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項6】請求項3から請求項5のいずれかに記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの配置間隔がキャピラリーの外径の4倍以下であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項7】請求項2に記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの外部が透明液体であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項8】請求項7に記載の電気泳動装置において、キャピラリーの内径に対する外径の比を2以下とすることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項9】請求項7又は請求項8に記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの配置間隔がキャピラリーの外径の4倍以下であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項10】請求項1に記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの断面が梢円形であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項11】請求項10に記載の電気泳動装置において、梢円の短半径をキャピラリー配列平面と平行に、長半径をキャピラリー配列体の平面と垂直にして複数のキャピラリーを平面状に配列させることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項12】請求項10に記載の電気泳動装置において、梢円の長半径をキャピラリー配列平面と平行に、短半径をキャピラリー配列体の平面と垂直にして複数のキャピラリーを平面状に配列させることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項13】請求項10から請求項12のいずれかに記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの外部が透明液体であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項14】請求項10から請求項12のいずれかに記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの外部が透明固体であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項15】請求項1に記載の電気泳動装置において、複数のキャピラリーの少なくとも計測部分の断面が正方形または長方形あるいは少なくとも2組のほぼ平行な線で形成された形状であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項16】請求項15に記載の電気泳動装置において、断面形状の一辺がキャピラリー配列体の平面と平行になるように複数のキャピラリーを平面状に配列させることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項17】請求項15又は請求項16に記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの外部が透明液体であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項18】請求項15又は請求項16に記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの外部が透明固体であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項19】請求項15又は請求項16に記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの外部が透明固体であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項20】請求項1-9に記載の電気泳動装置において、前記透明部分のキャピラリーの外部がガラス材質であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項21】請求項1から請求項20のいずれかに記載の電気泳動装置において、キャピラリーの少なくとも1試料を検出する計測部分がガラス製であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項22】請求項21に記載の電気泳動装置において、前記計測部分が溶融石英製であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項23】請求項1から請求項22のいずれかに記載の電気泳動装置において、キャピラリー内部に電気泳動媒体としてアクリルアミドゲルまたはその誘導体を充填することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項24】請求項1から請求項22のいずれかに記載の電気泳動装置において、キャピラリー内部に電気泳動媒体としてポリマーを充填することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項25】請求項1から請求項24のいずれかに記載の電気泳動装置において、断面形状が異なる少なくとも2種類のキャピラリーを、試料注入端と蛍光検出位置の中間で接続することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項26】請求項1から請求項25のいずれかに記載の電気泳動装置において、キャピラリーの少なくとも

計測部分の表面に減反射のコーティングを施すことを特徴とする電気泳動装置。

【請求項27】請求項26に記載の電気泳動装置において、キャビラリー表面のコーティングが単層蒸着であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項28】請求項1から請求項27のいずれかに記載の電気泳動装置において、複数のキャビラリーすべてを照射して透過したレーザを全反射ミラーで折り返し、再び逆経路で複数のキャビラリーすべてを照射することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項29】請求項1から請求項27のいずれかに記載の電気泳動装置において、レーザビームをビームスプリッターを用いて2つに分割し、キャビラリー配列体の平面の側方の2方向より対向させて照射することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項30】請求項1から請求項27のいずれかに記載の電気泳動装置において、2台のレーザ光源からの2つのレーザビームを用い、キャビラリー配列体の側方の2方向より対向させて照射することを特徴とする電気泳動装置。

【請求項31】請求項1から請求項30のいずれかに記載の電気泳動装置において、蛍光計測用フィルターの励起レーザ波長の透過率が10%以下であることを特徴とする電気泳動装置。

【請求項32】少なくとも一部が平面状に配列された複数のキャビラリーにレーザを照射して、泳動する試料の成分を検出するキャビラリーアレイ電気泳動装置において、前記キャビラリーの内部が電気泳動分離媒体で満たされ、前記レーザが前記キャビラリーの配列方向に沿って前記複数のキャビラリーの透明部分が実質的に同時に照射されることを特徴とするキャビラリーアレイ電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、DNA、RNA、又は蛋白質等の分離分析装置に関し、特にDNA、RNAの塩基配列決定、あるいは個体の塩基配列の多様性に基づく制限酵素断片の多型性の計測に有効なキャビラリーアレイ電気泳動装置に関する。

【0002】

【従来の技術】DNA、RNA等の分析技術は、遺伝子解析や遺伝子診断を含む医学、生物学の分野でますます重要になってきている。特に最近、ゲノム解析計画に関連して、高速、高スループットのDNA解析装置の開発が進んでいる。DNA解析では、蛍光標識された試料をゲル電気泳動によって分子量分離し、試料にレーザを照射して蛍光標識から発する蛍光を検出し、得られた一連の信号を解析する。ゲル電気泳動では、アクリルアミドを間隔0.3mm程度の2枚のガラス板の間に重合させた平板ゲルが広く用いられている(スラブゲル電気泳

動)。平板ゲルの上端に注入された試料は、平板ゲルの両端に印加された電界により、分子量分離されながら下端方向に泳動される。泳動開始点から一定距離の平板ゲルの位置を、レーザで平板ゲルの側面かり全ての泳動路を一度に照射し、レーザ照射部を通過する蛍光標識された試料の分離成分を励起する。レーザ照射による蛍光の検出は一定時間間隔で連続して周期的に行なう。この検出結果を解析することにより、DNA塩基配列を決定している。

- 10 【0003】最近、平板ゲルに替わり、溶融石英毛細管内にゲルを重合させたキャビラリーゲルが用いられるようになった。キャビラリーゲル電気泳動は、上記のスラブゲル電気泳動と比較して大きな電界を加えられることができ、高速、高分離が可能な方法として注目を集めている(A n a l y t i c a l C h e m i s t r y 6 2, 900 (1990))。通常、キャビラリーゲル電気泳動装置では、1本のキャビラリー管を用い、その下端近傍のキャビラリー中をレーザ照射し、蛍光標識された試料から発する蛍光を検出するオンカラム計測を行なっている。キャビラリーの外表面全体はポリイミドコーティングがなされているので、蛍光を検出する位置のコーティングを除去してガラスが露出した窓にしておく(米国特許5312535(May 17, 1994))。このガラスが露出した位置に照射されるレーザにより、電気泳動によってキャビラリー内部を泳動する蛍光標識された試料の分離された成分が励起され蛍光を発する。この蛍光を一定時間間隔で連続して周期的に計測し、解析することによりDNA塩基配列を決定している。

- 30 【0004】しかし、上記のオンカラム計測装置では、レーザビームのキャビラリー表面での屈折が大きいために、1度に1本のキャビラリーしか使用できず、スループットが上がらないという難点があった。最近、複数本のキャビラリーをアレイ化して、多くの試料を同時に高速分析する高スループットなキャビラリーアレイゲル電気泳動装置がいくつかの例が報告されている。

- 【0005】第1の例では、キャビラリーアレイスキヤン方式(Nature, 359, 167 (1992))であり、複数のキャビラリーを1本づつ順番にレーザ照射し、オンカラム蛍光計測する方式である。この装置ではレーザビームがキャビラリー中で最も絞られる位置と蛍光計測器(蛍光受光光学系)に入射する光源位置とが一致する共焦点構造が採用されており、1本づつのキャビラリーを独立に計測できる。レーザ照射及び蛍光受光光学系は固定し、キャビラリーアレイを保持したステージを1次元方向に移動させて、各キャビラリーを順番にレーザ照射している。

- 【0006】第2の例は、キャビラリーアレイシースフロー方式(Nature, 361, 565-566 (1993))、特開平6-138037号公報)である。こ

の装置では、キャビラリーアレイの下端を緩衝液中に浸し、ゲル電気泳動によって分子量分離された試料成分をそのまま緩衝液中に溶出させ、キャビラリーの存在しない空間部分で、試料成分から発する蛍光を検出する、オフカラム計測を行っている（キャビラリーにレーザ照射して蛍光標識された試料成分から発する蛍光を検出するオンカラム計測に対比して、本願明細書では、キャビラリーの存在しない空間部分で、蛍光標識された試料成分から発する蛍光を検出する方式を、簡単にオフカラム計測と呼ぶ）。

【0007】また、緩衝液を試料成分の泳動方向にゆっくり流すことによって、異なるキャビラリーゲルから溶出された分離成分の緩衝液中の互い混合、あるいは1本のキャビラリーゲル中で分離されていた2つの成分の緩衝液中の混合を防止している。キャビラリーアレイ出口近傍で、キャビラリーが存在せず緩衝液が存在する空間部分を、レーザ照射してキャビラリー表面でのレーザビームの散乱の問題を回避し、複数のキャビラリーから溶出された成分を、実質的に一括して励起し、実質的に同時に蛍光検出することが可能になっている。

【0008】第3の例では、複数のキャビラリーを機械的にスキャンすることなく、複数のキャビラリーを同時にオンカラム計測するために、単一のレーザ光源からのレーザ光をビームスプリッター等により分割して、複数のキャビラリーのそれぞれに同時照射している（Analytical Chemistry 65, 956 (1993)）。

【0009】第4の例では、レーザ光をシリンドリカルレンズでキャビラリーの配列方向に拡げて複数のキャビラリーに一括して照射している（Analytical Chemistry 66, 1424 (1994)）。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】上記第1の例のキャビラリーアレイスキャン方式では、蛍光計測をキャビラリー1本づつ順番に行なうため、1本あたりの蛍光検出に割り当たられる時間が、1本のキャビラリーを使用する通常のオンカラム計測に比較して減ってしまう。 n 本のキャビラリーアレイを使用する場合、通常のオンカラム計測に比較して1本あたりの蛍光検出に割り当たられる時間は最大で $1/n$ 、実際には試料の分離成分が通過しないキャビラリーのガラス部分もスキャンされるので $1/n$ 以下になってしまう。この結果、蛍光検出感度が低下する問題が生じる。即ち、上記第1の例で、1本のキャビラリーを使用する通常のオンカラム計測と同等の蛍光検出感度を得るために、通常のオンカラム計測における蛍光の検出時間の n 倍以上の時間を必要とすることになる。

【0011】また、1本のキャビラリー中に分離される成分の電気泳動パターンの隣り合うピークの時間間隔

は、高速分析になるほど小さくなるが、この隣り合うピークの時間間隔に対して、 n 本のキャビラリーアレイの1回のスキャンに要する時間が無視できないほど大きくなると、分離された成分の電気泳動パターンの分離能が低下する問題が生じる。更に、この第1の例の装置では、スキャンを機械的に行なうためのステージ可動部をもち、故障が多発する構造を有している。

【0012】上記の第2の例のキャビラリーアレイシースフロー方式では、分子量分離された成分から得られる蛍光強度が、オンカラム蛍光計測の場合と比較して、分子量が大きくなるほど小さくなってしまうという問題がある。この問題は、次の理由から生じる。キャビラリーゲルの下端より緩衝液中に溶出した分離成分が、緩衝液中で拡散等によって混合しないようにするために、緩衝液を試料成分の泳動方向に一定速度以上で定的に流す必要がある。一方、キャビラリーゲル中を分子量分離されながら泳動する試料成分の泳動速度は、その分子量が大きいほど小さくなる。緩衝液のフロー速度に対して成分のキャビラリーゲル中での試料成分の泳動速度が小さいほど、その試料成分はキャビラリーゲルから緩衝液中に溶出される際に、泳動方向に大きく引き伸ばされることになる。その結果、蛍光強度が小さくなり、蛍光表指揮された試料成分から発する蛍光の計測感度が低下する原因となる。

【0013】上記の第3、第4の例では、キャビラリー1本当たりに照射されるレーザ光の強度が低下するため、泳動分離された試料成分を感度良く検出できないという問題がある。

【0014】本発明の目的は、上記従来技術の問題を解決するために、オンカラム蛍光計測を行ないながら、複数のキャビラリーを機械的にスキャンせず、又は光学的にレーザビームのスキャンすることなく、複数のキャビラリーを実質的に同時にレーザ照射して、複数のキャビラリー中を泳動する蛍光標識された試料成分から発する蛍光を、実質的に同時に一括して計測できるキャビラリーアレイ電気泳動装置を提供することにある。

【0015】

【課題を解決するための手段】本発明のキャビラリーアレイ電気泳動装置は、複数のキャビラリーを同一平面上に配列し、この平面と平行な方向からレーザ光を照射して、複数のキャビラリーを同時に励起してオンカラム計測するマルチフォーカスキャビラリーアレイ電気泳動装置に特徴を有する。より詳細に説明すると、本発明のキャビラリーアレイ電気泳動装置は以下の特徴を有する。

【0016】(1)複数のキャビラリーをレーザ照射して蛍光計測する電気泳動装置において、キャビラリー内部が電気泳動分離媒体で満たされた位置をレーザ照射するオンカラム蛍光計測を行ない、キャビラリーの少なくともレーザ照射位置（レーザ照射される透明部分のキャビラリーの断面は円形であり、キャビラリーの透明部分

の外部が透明気体である)を透明材質とし、キャピラリーの少なくともレーザ照射位置を平面状に配列させ、レーザをキャピラリーが配列する配列体の側方より配列平面に平行に照射し、複数のキャピラリーを同時に照射する。レーザ照射位置でのキャピラリーの内径に対する外径の比を1から7、又は3から5とする。透明部分のキャピラリーの配置間隔はキャピラリーの外径の4倍以下とする。キャピラリーの透明部分の外部が透明気体を透明液体の置き換えることもでき、この場合には、透明部分のキャピラリーの内径に対する外径の比を2以下とし、透明部分のキャピラリーの配置間隔はキャピラリーの外径の4倍以下とする。

【0017】(2) 複数のキャピラリーをレーザ照射して蛍光計測する電気泳動装置において、キャピラリー内部が電気泳動分離媒体で満たされた位置をレーザ照射するオンカラム蛍光計測を行ない、キャピラリーの少なくともレーザ照射位置(レーザ照射される透明部分のキャピラリーの断面は梢円形である)を透明材質とし、キャピラリーの少なくともレーザ照射位置を平面状に配列させ、レーザをキャピラリーが配列する配列体の側方より配列平面に平行に照射し、複数のキャピラリーを同時に照射する。梢円の短半径をキャピラリー配列平面と平行に、長半径をキャピラリー配列平面と垂直にして複数のキャピラリーを平面状に配列させるか、梢円の長半径をキャピラリー配列平面と平行に、短半径をキャピラリー配列平面と垂直にして複数のキャピラリーを平面状に配列させる。透明部分のキャピラリーの外部を透明気体又は透明液体とする。

【0018】(3) 複数のキャピラリーをレーザ照射して蛍光計測する電気泳動装置において、キャピラリー内部が電気泳動分離媒体で満たされた位置をレーザ照射するオンカラム蛍光計測を行ない、キャピラリーの少なくともレーザ照射位置(レーザ照射される透明部分のキャピラリーの断面は正方形または長方形あるいは少なくとも2組のほぼ平行な線で形成された形状であり、)を透明材質とし、キャピラリーの少なくともレーザ照射位置を平面状に配列させ(断面形状の一辺がキャピラリー配列平面と平行になるように配列する)、レーザをキャピラリーが配列する配列体の側方より配列平面に平行に照射し、複数のキャピラリーを同時に照射する。透明部分のキャピラリーの外部は、透明気体、透明液体、透明固体のいずれかとする。透明固体とする場合には、外部をガラス製とするのが好ましく、とくに溶融石英製するのがよい。

【0019】さらに、(1)から(3)の電気泳動装置において、キャピラリー内部に電気泳動媒体としてアクリルアミドゲル又はその誘導体、あるいはポリマーを充填する。また、上記電気泳動装置において、断面形状が異なる少なくとも2種類のキャピラリーを、試料注入端と蛍光を検出する位置の中間で接続してもよい。また、

上記電気泳動装置において、キャピラリーの少なくとも蛍光を検出する計測部分の表面に減反射の単層蒸着のコーティングを施す。

【0020】以上説明した装置では、レーザの照射は、複数のキャピラリーすべてを照射して透過したレーザを全反射ミラーで折り返し、再び逆経路で複数のキャピラリーすべてを照射してもよいし、レーザビームをビームスプリッターを用いて2つに分割し、キャピラリー配列体の側方の2方向より対向させて照射してもよいし、2台のレーザ光源からの2つのレーザビームを用い、キャピラリー配列する配列体の側方の2方向より対向させて照射してもよく、蛍光計測用フィルターの励起レーザ波長の透過率が10%以下とする。

【0021】

【発明の実施の形態】図1は、複数のキャピラリー1(図1では、6本の例を示す)を同一平面上に配列し、この平面と平行であり、試料成分の泳動方向とほぼ直交する方向からレーザ2光を照射して、複数のキャピラリー1中を泳動する蛍光標識された試料成分を実質的に同時に励起して、試料成分をオンカラム計測して検出するマルチフォーカスキャピラリーアレイ電気泳動装置の主要部分を示す。図1(a)は複数キャピラリーの配列平面方向から見た図で、(b)はその断面図である。レーザ2が照射される複数のキャピラリーは、試料成分を分離するための分離用キャピラリー、もしくは複数の分離用キャピラリーの各々に接続され泳動分離された試料成分を検出するための計測用キャピラリーのいずれかである。レーザ2はゲルが充填されたキャピラリー(分離用キャピラリー)での試料の泳動開始点から所定の距離の部位、もしくはゲルが充填された計測用キャピラリーの所定の部位に照射される。

【0022】本発明のマルチフォーカスキャピラリーアレイ電気泳動装置では、泳動分離分析、又は解析される試料は、蛍光標識された複数の成分を含んでいる。又、試料に含まれる成分自身が、レーザの照射により蛍光を発する場合には蛍光標識は不要である。なお、図1を含め以下で参照する各図では、試料成分を泳動させるための電界を印加するための電源と、電極、電解液を収納する電極槽等の各手段、更にキャピラリー1の中を泳動する試料成分からの蛍光を検出した後、これら検出信号を処理する演算処理装置、演算処理結果の表示を行なう表示器、マルチフォーカスキャピラリーアレイ電気泳動装置の各部を制御する制御装置、レーザ光源等は省略している。なお、以下の説明では、平面上に配列された複数の計測用キャピラリー又は複数の分離用キャピラリーの各キャピラリーの中心軸を結ぶ方向に細く絞られたレーザ2が入射され、このレーザ2が屈折、散乱されることなく理想的に直進したと仮定した場合の、レーザ2の進行する軸をキャピラリー配列軸と呼ぶ。

【0023】(実施形態1) 本実施形態では、断面が円

である円筒形キャビラリーを用いる。本発明のマルチフォーカスキャビラリーアレイ電気泳動装置の特徴は、

(1) レーザパワーを多数のキャビラリーに到達させること、(2) レーザビームの散乱による背景光を低減させること、の2点である。

【0024】まず、(1)を実現させるための条件を、以下に説明するシュミレーション実験により明らかにした。図2は外半径R、内半径rの円筒形の1本のキャビラリーの断面図である。キャビラリー配列軸4から距離xだけ離れた位置に入射した無限小幅のレーザビーム2の、キャビラリー1による屈折により光路が変化する様子を示す。レーザビームは屈折率が変化する境界点を1本のキャビラリーにつき4回(または2回)通過する。即ち、キャビラリー1の外部からキャビラリー1への入射位置P₁、キャビラリー1からキャビラリー1の内部*

$$\theta_1 = \sin^{-1}(x/R)$$

【0027】

$$\theta_2 = \sin^{-1}((n_1/n_2) \sin \theta_1)$$

【0028】

$$\theta_3 = \sin^{-1}((R/r) \sin \theta_2)$$

【0029】

$$\theta_4 = \sin^{-1}((n_2/n_1) \sin \theta_3)$$

【0030】

$$\theta_5 = \theta_4 + \theta_3 + \theta_2 + \theta_1$$

【0031】

$$\theta_6 = \theta_5 - \theta_4 - \theta_3 - \theta_2 - \theta_1$$

【0032】

$$\Delta\theta = \theta_6 - \theta_1$$

【0033】

$$\theta_6 = \theta_1 + \theta_2 + \theta_3 + \theta_4$$

キャビラリー入射前のレーザビームと透過後のレーザビームがなす角を屈折角 $\Delta\theta$ とすると、 $\Delta\theta$ は図2により、(数9)で与えられる。

$$\begin{aligned}\Delta\theta &= (\theta_1 - \theta_2) + (\theta_2 - \theta_3) + (\theta_3 - \theta_4) + (\theta_4 - \theta_1) \\ &= 2(-\theta_1 + \theta_2 - \theta_3 + \theta_4) \\ &= 2(-\sin^{-1}(x/R) + \sin^{-1}(x n_1 / (R n_2)) \\ &\quad - \sin^{-1}(x n_1 / (r n_2)) + \sin^{-1}(x n_1 / (r n_2)))\end{aligned}$$

$\Delta\theta$ はレーザビームの入射位置xによって異なり、キャビラリーの外半径R、内半径r、キャビラリー外部の屈折率n₁、キャビラリー材質の屈折率n₂、キャビラリー内部の屈折率n₃でコントロールできる。 $x=0$ のレーザビームに対しては常に $\Delta\theta=0$ であり、xの増加とともに $|\Delta\theta|$ も単調に増加する(但し、ここではxを想定している)。つまりキャビラリーそのものが焦点の定まらないレンズの作用をもち、 $\Delta\theta>0$ ならば凹レンズ、 $\Delta\theta<0$ ならば凸レンズとなる。 $n_1=n_2=n_3$ のときは、もちろんxによらず $\Delta\theta=0$ となる。

【0035】複数本のキャビラリーを1平面状に配列した配列体に、複数本のキャビラリーを通過するように配

*への入射位置P₁、キャビラリー1の内部からキャビラリー1への出射位置P₂、キャビラリー1からキャビラリー1の外部への出射位置P₃の4点で、レーザビーム2は屈折を受ける。但し、レーザビーム2の光路によつては、キャビラリー内部は通過しないため、P₁、P₃が存在しない場合もある。P₁、P₂、P₃、P₄でのレーザビームの入射角、屈折角は、それぞれ θ_1 、 θ_2 、 θ_3 、 θ_4 である。キャビラリー外部の媒質の屈折率をn₁、キャビラリーの材質の屈折率をn₂、キャビラリー内部の媒質の屈折率をn₃とする。

【0025】図2に示す幾何学的関係、及び各界面でのSnellの法則を用いると、(数1)から(数8)が得られる。

【0026】

【数1】

$$\dots \text{(数1)}$$

【数2】

$$\dots \text{(数2)}$$

【数3】

$$\dots \text{(数3)}$$

【数4】

$$\dots \text{(数4)}$$

【数5】

$$\dots \text{(数5)}$$

【数6】

$$\dots \text{(数6)}$$

【数7】

$$\dots \text{(数7)}$$

【数8】

$$\dots \text{(数8)}$$

※【0034】

【数9】

※

列体の側方よりレーザビームを照射した場合、レーザパワーを多数のキャビラリーに到達させるためには、キャビラリーによる屈折角 $\Delta\theta$ が小さいほど、特に、各キャビラリーが $\Delta\theta < 0$ の凸レンズ作用をもつほど有利である。1本のキャビラリーに着目したとき、入射レーザビームよりも透過レーザビームが絞られていれば、効率良く隣のキャビラリーにレーザパワーを到達させることができるからである。通常の電気泳動条件では、常に $n_1 > n_2$ であるから(数9)から n_3 が小さいほど $\Delta\theta$ は小さくなる。つまり、キャビラリー外部が $n_3 = 1 < 0$ である空気のような透明気体で満たされていることが好適な条件となる。

【0036】一方、レーザビームは各境界点で反射も受ける。つまり、入射光のレーザパワーの一部は反射光となり、残りが屈折光（透過光）となる。入射光のレーザパワーに対する反射光のレーザパワーの比率を反射率R_r、入射光のレーザパワーに対する屈折光のレーザパワー*

$$2R_r = \tan^2(\theta_i - \theta_r) / \tan^2(\theta_i + \theta_r) + \sin^2(\theta_i - \theta_r) / \sin^2(\theta_i + \theta_r) \quad \dots (\text{数10})$$

【0038】

$$2T_n = \sin(2\theta_i) \sin(2\theta_r) / \sin^2(\theta_i + \theta_r) \quad (1/\cos^2(\theta_i - \theta_r) + 1) \quad \dots (\text{数11})$$

ここでR_r+T_n=1である。但し、ここでは入射光に偏光がない場合を示した。レーザパワーは境界点を通過する毎に、(数10)、(数11)に従って順次減少する。そこで、電気泳動時に試料成分が通過するキャピラリー内部のレーザビームの光路長（図2において点P₁と点P₂を結ぶ長さ）にその位置でのレーザパワーを乗じることにより、レーザビームのこのキャピラリーにおける励起効率（このキャピラリー内を泳動する標識された試料成分のレーザビームによる標識の励起効率）を見積もった。また、無限小幅のレーザビームが入射する位置を、キャピラリー配列軸（x=0）からの距離xとし、この距離xを変化させることにより、有限幅のレーザビームのこのキャピラリーにおける励起効率を見積もった。更に、複数のキャピラリーが平面状に配列された場合に、以上の計算を連続的に行なうことにより、複数のキャピラリーの各々のキャピラリーにおける励起効率がどのように変化するかを調べた。

【0039】具体例として、キャピラリーの構成を、外径0.375mm (R=0.1875mm)、内径0.1mm (r=0.05mm)、長さ50cmの溶融石英円筒管 (n_s=1.46) を用いた。変性剤として7Mのウレアを含んだ4%T (Total monomer concentration)、5%C (Cross linking material concentration) の濃度のアクリルアミドを注入した後、ゲル化 (n_s=1.36) させた。試料注入側のキャピラリー末端より30cmの位置で、長さ10mm、全周にわたり各キャピラリーのポリイミド被覆を除去して蛍光を計測するための窓を予め作製してレーザ照射部位とした。

【0040】これらキャピラリーゲル10本の計測部分を図3に示すように、0.375mmピッチに揃え、各キャピラリー1を密着させてガラス平板5上に固定して平面状に配列した。蛍光計測位置のキャピラリー外部は空気 (n_s=1.00) とした。蛍光計測はキャピラリー配列平面に垂直な方向より、第1レンズ6、バンドパスフィルター7、第2レンズ8を介して2次元検出器9により行なった。本実験条件では、キャピラリーによるレーザビーム2の反射が大きいため、平板ゲル電気泳動等の蛍光計測時に用いるバンドパスフィルターよりも

*一の比率を透過率T_nとすると、これらは入射角θ_iと屈折角θ_r（即ち両媒質の屈折率）の関数で、(数10)、(数11)で与えられる。

【0037】

【数10】

【数11】

$$2T_n = \sin(2\theta_i) \sin(2\theta_r) / \sin^2(\theta_i + \theta_r) \quad (1/\cos^2(\theta_i - \theta_r) + 1) \quad \dots (\text{数11})$$

レーザ波長の透過率を下げる必要があった。そこで、レーザ波長の透過率が10%以下であるバンドパスフィルターを用いた。

【0041】図4は蛍光計測部分のキャピラリー軸に対する断面図を示し、レーザをビーム径0.1mmに集光し、キャピラリー配列体の側方よりキャピラリー配列軸に沿って入射させた。このとき、(数9)からx≤rのレーザビームに対して、常に△θ<0となり、各キャピラリーは凸レンズ作用をもつた。0.1mmのビーム幅を0.01mm間隔の合計11本の無限小幅のビームコンポーネントに分けて考えた。即ち、ビームコンポーネントはキャピラリー配列軸（レーザビーム中心軸、x=0）からの距離xが、0.00, ±0.01, ±0.02, ±0.03, ±0.04, ±0.05mmの位置で1本目のキャピラリーに入射する。図5は、各ビームコンポーネントのキャピラリー透過光が、どのような光路を描いてキャピラリー配列中を進行するかをシミュレーションした結果を示す。図5は、蛍光計測部分のキャピラリー軸に対する断面図を示し、上段はレーザ光源側の5本のキャピラリー、下段はレーザ出射側の5本のキャピラリーを表わしている。即ち、レーザビームは、上段の左側のキャピラリーに入射して、下段の右側のキャピラリーから出射する。

【0042】全ての光路の計算は、10本のキャピラリーが上記のように配列しているとして連続的に行なった。レーザビームの中心軸に位置するビームコンポーネント (x=0.00) は全ての境界点での入射角が0度であるため、屈折を全く受けず、△θ=0であり、キャピラリー配列軸上を直線的に進行する。x=0.00以外のビームコンポーネントは、キャピラリーの凸レンズ作用

のために基本的にキャピラリー配列軸に向かう方向に屈折を受け、光路はキャピラリー配列軸を中心として上下に振動しながらキャピラリー配列中を進行した。振動の振幅や周期はビームコンポーネントによって異なったが、各ビームコンポーネントの光路は、キャピラリー配列軸を対称軸として上下対称であった。以上の結果、全てのビームコンポーネントは10本のキャピラリー全てについて、キャピラリー外部に逸脱することなしに、キャピラリー内部を透過し、キャピラリー内を泳動する試料成分の励起に寄与していることが判明した。即ち、本

発明のキャピラリー電気泳動装置は、各キャピラリーグルにおいて照射されるレーザビームは、ほぼ収束するので、複数のキャピラリーグルのそれぞれにおいて、近似的に収束するレーザビームの光路を形成するので、マルチフォーカスキャピラリー電気泳動装置と呼ぶにふさわしいと言える。

【0043】使用するキャピラリーの本数を変化させた場合、各キャピラリーにおける励起効率の減少の度合を評価するために、各キャピラリー毎に、キャピラリー内部を透過する光路の長さ（光路長）を求め、この光路長にその位置でのレーザパワーを乗じ、全てのビームコンポーネントについて積算し、この積算値を各キャピラリーにおける励起効率とした。図6はこのようにして求めた、各キャピラリーにおける励起効率を示す（各キャピラリーにおける励起効率は、レーザ光源側の1本目のキャピラリーにおける励起効率により規格化されている）。図6では、各キャピラリーにはレーザ光源側から順番に1から10の番号を付けてある。

【0044】全てのビームコンポーネントのレーザパワーは、屈折率の変化する境界点を透過する毎に反射により減衰するため、キャピラリー毎の励起効率は、図6のようにレーザ光源から離れるに従い指数間数的に減少した。実際に計測される各キャピラリーからの蛍光強度はこの励起効率に比例する。図6に示すように、10本目のキャピラリーの励起効率は1本目の54.1%にも及んだ。この値からレーザビームのキャピラリー1本当たりの平均透過率を求める、93.4%の高効率であった（ $0.934^9 = 0.541$ ）。検出器の感度とダイナミックレンジの関係から、同時計測可能な励起効率の減少を20%までとすると、本計算実験条件では、24本までのキャピラリーの同時計測が可能であった（ $0.934^{24} = 0.21$ ）。

【0045】他の具体例として、キャピラリー内径を0.1mm ($r = 0.05\text{ mm}$) とし、キャピラリー外径を0.11mm ($R = 0.055\text{ mm}$)、0.2mm ($R = 0.1\text{ mm}$)、0.375mm ($R = 0.75\text{ mm}$)、0.75mm ($R = 0.375\text{ mm}$)、1.0mm ($R = 0.5\text{ mm}$)とする場合について、上記と同様の計算を行なった（他の条件は全て上記と同一とした）。但し、10本のキャピラリーの配列ピッチは各キャピラリーの外径と一致させ、各キャピラリーを密着配列した。図7は、レーザ光源から最も遠い位置に配列された10本目のキャピラリーにおける励起効率のキャピラリーの外径/内径の比率 (R/r) に関する変化を表す（励起効率は、図6と同様にレーザ光源に最も近い位置に配列された1本目キャピラリーにおける励起効率により規格化されている）。本計算実験では、キャピラリー内径を0.1mmに統一して行なっているが、他の内径のキャピラリーを用いた場合でも、キャピラリーの外径/内径の比率 (R/r) が同じならば本質的に同じ結

10

果が得られる（但し、入射するレーザビーム幅はキャピラリーの内径とほぼ同じとする）。

【0046】図8は、図7の結果からレーザビームのキャピラリー1本あたりの平均透過率を求め、励起効率の減少を20%までとする同時計測可能な最大キャピラリーの本数を先と同様に求めた結果を示す。図7、図8の結果から、キャピラリーの外径/内径の比率 R/r が4付近の値（正確には、3.75）をとるととき、最も効率的に多数のキャピラリーを同時計測でき、この値から離れるに従い同時計測できるキャピラリーの数が減少することが判明した。キャピラリーの外径/内径の比率 R/r が小さいとき、同時計測できるキャピラリーの数が減少する理由は、レーザビーム幅とキャピラリー外径の値が近いために、キャピラリー外径から逸脱するビームコンポーネントが存在したためである。キャピラリーの外径/内径の比率 R/r が大きいとき、同時計測できるキャピラリーの数が減少する理由は、キャピラリーのガラス部分のみを透過して、キャピラリー内部を透過しないビームコンポーネントが存在したためである。

20

【0047】分析又は解析する試料を大量、複数種類にわたり調製して処理する場合、一般にマイクロタイタープレートが広く用いられている。このマイクロタイタープレートは、 12×8 の格子状に配列された96個の穴のあいたプレートで、世界的な標準規格になっている。従って、電気泳動計測において同時に処理する試料数を12又は8の倍数とすることは、試料調製と電気泳動計測の大量処理をリンクさせる場合、非常に重要である。

30

即ち、同時に処理して計測する試料数は8、12、16、24、…であることが好ましい。図8の結果から、各キャピラリーにおける励起効率の減少を20%までとする同時計測を可能とするための、キャピラリーの外径/内径の比率 R/r に関する条件は、同時に処理して計測する試料数を、8、12、16、24とする場合、それぞれ、 $1 < R/r \leq 1.0$ 、 $1 < R/r \leq 1.0$ 、 $1 \leq R/r \leq 7$ 、 $3 \leq R/r \leq 5$ となる。

40

【0048】次に、本発明のもうひとつのキーポイントである、レーザビームの散乱による背景光を低減させる条件について説明する。レーザビームの散乱は主に、各キャピラリーの屈折率が変化する境界点でのレーザビームの反射が原因である。反射光は反射の法則に従い、入射角と反射角が等しい方向に進行する。その結果、様々な方向に反射光が進行するが、なかにはキャピラリーが配列する平面に垂直な方向に配置した光検出系に直接入射する反射光が存在する。これは蛍光計測時の背景光を著しく増大させ、影響大であり、計測感度の低下につながる。そこで、この光検出系に直接入射する反射光のレーザパワーを全てのキャピラリーについて積算することによりその影響を見積もった。

50

【0049】図9は、上記の図7、図8の結果を得たと同様の計算実験条件として、光検出系に直接入射する反

射光のレーザパワーを10本のキャビラリーについて積算して求め、積算結果のキャビラリーの外径／内径の比率(R/r)に関する変化を示す。光検出系に直接入射する反射光のレーザパワーは、上述したように、蛍光計測時の背景光を著しく増大させ、計測感度の低下につながるので、値が小さいほど高感度に蛍光計測を行なうことができる。図9の結果から、キャビラリーの外径／内径の比率 R/r が4付近で、最も背景光が小さくなり高感度に蛍光計測でき、この値から離れるに従い背景光が増大して計測感度が低下した。キャビラリーの外径／内径の比率 R/r が小さいときに背景光が大きく増大した理由は、レーザビーム幅とキャビラリー外径の値が近いために、大きな入射角でキャビラリーに照射されるビームコンポーネントの割合が増えたためである。以上の結果から、 $2 \leq R/r$ の条件が高感度計測に有効であることが判明した。

【0050】光検出系に直接入射する反射光のレーザパワーを下げるためには、屈折率の変化する各境界点での反射率を下げれば良い。そのための一つの手段として、レーザが照射される位置のキャビラリーの外部を水、水溶液等の透明液体で満たし、キャビラリーによる屈折角を大きくすることがある。即ち、凹レンズ方向に作用させることになり、多くのキャビラリーにレーザパワーを到達させる点においては不利になる。従って、これらの兼ね合いで条件を評価すべきである。ショミレーション結果、 $R/r \leq 2$ のキャビラリーについては、キャビラリー外部を液体で満たすことによって、背景光が減少する効果の方が大きかった。その結果、多数のキャビラリーを並べて同時分析できるので、高速、高スループット、高感度な分析を実現できる。

【0051】本実施形態で用いたサイズ以外の円筒形状キャビラリーを用いても、もちろん同様の効果が得られる。

【0052】(実施形態2) (実施形態1)では平面状に配列したキャビラリーは互いに密着させたが、ここでは各キャビラリーの間隔をキャビラリーの外径以上にした。具体例として、キャビラリーに外径0.2mm($R=0.1\text{ mm}$)、内径0.1mm($r=0.05\text{ mm}$)、長さ50cmの溶融石英円筒管($n_s=1.46$)を10本用いた。配列間隔は、キャビラリー外径の1倍(実施形態1と同じ)、2倍、3倍、4倍、5倍、即ち、0.2、0.4、0.6、0.8、1.0mmの各場合について調べた。その他の実験条件は(実施形態1)と同一とした。

【0053】図10は、レーザ光源から最も遠い位置に配列された10本目のキャビラリーにおける励起効率をキャビラリーの配列間隔を変数として示した(励起効率は、図6と同様にレーザ光源に最も近い位置に配列された1本目のキャビラリーにおける励起効率により規格化されている)。図10の結果から、キャビラリーの配列

間隔が増大するほど、10本目のキャビラリーにおける励起効率は低下し、多数のキャビラリーの同時計測に不利な条件となった。つまり、キャビラリーの配列間隔をキャビラリー外径と一致させるとき、即ち、キャビラリーを密着配列するときに、最も効率的に多数のキャビラリーの同時計測ができることが判明した。この最適条件(キャビラリーを密着配列する)における10本目のキャビラリーのS/Nが、1本目のキャビラリーのS/Nの半分になる条件を实用範囲とすると、励起効率は1/4になる条件まで許容範囲となる。この励起効率は1/4になる条件は、図10からキャビラリーの配列間隔が0.8mm以下、即ち配列間隔がキャビラリー外径の4倍以下であれば満たされる。

【0054】(実施形態3) (実施形態1)のショミレーション結果に基づき、本実施形態ではDNA試料の電気泳動を実際に行なった。まず、平面状に配列された5本のキャビラリーゲルを使用し電気泳動を行ない、蛍光検出する部分のキャビラリーゲルを水中に配置して、蛍光計測することによりDNA塩基配列決定を実施した。

図11は、使用した装置の基本構成を示す。キャビラリーゲルは、長さ50cm、外径0.2mm($R=0.1\text{ mm}$)、内径0.1mm($r=0.05\text{ mm}$)の溶融石英管($n_s=1.46$)に、変性剤として7Mのウレアを含んだ4%T(Total monomer concentration)、5%C(Crosslinking material concentration)の濃度のアクリルアミドを注入した後ゲル化($n_s=1.36$)させて調製した。試料注入側のキャビラリー末端より3.0cmの位置で、長さ1.0mm、全周にわたり、ポリイミド被覆を除去して、蛍光を計測する窓を予め作製してレーザ照射部位とした。図11の示すように、このキャビラリーゲル5本を0.2mmピッチに揃えて平面状に配列し、水($n_s=1.33$)を満たした蛍光計測セル12内に固定した。但し、図11では、キャビラリーゲル1はキャビラリーゲルの計測窓近傍のみを示している。

【0055】図12は蛍光計測セル12のキャビラリー軸に対する断面図を示し、YAGレーザ(532nm、20mW)及びHe-Neレーザ(594nm、10mW)を同軸にした後ビーム径0.1mmに集光しビーム2とし、キャビラリー配列体の側方よりキャビラリー配列軸に沿って入射させた。蛍光計測セル12内部にはアクリルアミドゲル10が充填されたキャビラリー1が平面に配置され、キャビラリー1の外部には水14が満たされている。

【0056】図11に示すように、蛍光計測は、キャビラリーゲルが配列する平面に対して垂直方向より行なつた。水平方向に幅0.8mmで1列に並ぶ5個の蛍光発光点群を第一カメラレンズ6ではほぼ平行光束にし、蛍光発光点群の像を垂直方向に4つに分割する像分割プリズ

ム及び4つの像を結ぶ光束に対応させた4種の組み合わせフィルター14を透過させ、第二カメラレンズ8で結像させた。なお、この蛍光選別法については特開平2-269936号公報に詳しく記されている。 $5 \times 4 = 20$ 個に2次元状に展開された蛍光発光点群は、冷却型の2次元CCDカメラ9で一度に露光計測した。露光時間1.0秒、データ取得間隔1.5秒で連続計測を行った。

【0057】5種のDNA試料の塩基配列決定はサンガ一法に従って行なった。調製されたDNA試料成分には、末端塩基種C、G、A、Tに対応して4種の蛍光体Cy3（極大発光波長565nm）、TRITC（極大発光波長580nm）、Texas Red（極大発光波長615nm）、Cy5（極大発光波長665nm）を標識した。ここで、Cy3、Cy5はバイオロジカル・ディテクション・システム社（米国）より販売されており、TRITC、Texas Redはモレキュラー・プローブ社より販売されている。これら4種の蛍光が波長選別されて2次元CCDカメラに結像されるよう4種の組み合わせフィルターを用いた。末端塩基種に対応した4種の反応物を試料種毎に混合した後、エタノール沈殿によって10倍に濃縮して試料溶媒をホルムアミドに置換した。5本のキャピラリーゲルの試料注入端をそれぞれ5種のDNA試料液中に浸し、キャピラリーゲルの両端に100V/cm（5kV）の一定電界強度を2秒間印加して試料注入を行なった。電気泳動は一定電界強度100V/cm（5kV）で約3時間行なった。2次元CCDカメラで得られた4種の蛍光に対応する4種の信号の時間変化をコンピュータで解析し、5種の試料のDNA塩基配列を決定した。

【0058】図13は、本実施形態で得られたDNAシーケンス結果のうち、Texas Redで標識されたA成分の電気泳動パターンであり、泳動時間30分～60分の電気泳動パターンで、プライマーから約130塩基長までのA成分のパターンを示している。但し、分析した試料は5種とともに標準試料のM13mp18である。図13の最上段のキャピラリー-1が最もレーザ光源側のキャピラリーであり、以下数字の順番にレーザ光源から遠ざかるキャピラリーの電気泳動パターンを示している。ピーク強度はレーザ光源から遠ざかるに従い減少した。キャピラリー-5のピーク強度は、キャピラリー-1の1/3以下になっているが、それでも十分に高いS/N（塩基長91に相当する位置で、S/N=734である）でピーク検出が可能であった。なお、キャピラリー-1のピークにおけるS/Nは、塩基長91に相当する位置で、S/N=3300である。

【0059】本実験条件ではレーザが照射される位置のキャピラリー外部を水としているため、外部を空気とした場合と比較して、キャピラリー界面でのレーザ反射が減少し、背景光信号が1桁近く減少した。このことは

（実施形態1）で説明したことが実験的に確認されたことを意味する。他の蛍光体で標識された成分の電気泳動パターンも同様に得られており、5本のキャピラリーゲル電気泳動によるDNA塩基配列決定を高感度に実現できた。

【0060】次に、平面状に配列された10本のキャピラリーゲルを使用して電気泳動を行ない、泳動する試料成分からの発する蛍光を空气中で検出し計測することにより、DNA塩基配列決定を実施した。使用するキャピラリーは外径0.375mm（R=0.1875mm）、内径0.1mm（r=0.05mm）の溶融石英管（n₂=1.46）とし、10本のキャピラリー配列は、図4に示すように、ガラス平面上に0.375mmピッチで固定し、図11、図12に示す蛍光計測セルは使用しない。即ち、キャピラリー外部の媒質は空気（n=1.00）である。これら以外の実験条件は先の実験と同一とした。

【0061】図14、15は、本実施形態で得られたDNAシーケンス結果のうち、Texas Redで標識されたA成分の電気泳動パターンであり、泳動時間30分～60分の電気泳動パターンで、プライマーから約100塩基長までのA成分のパターンを示している。但し、分析した試料は10種ともに標準試料のM13mp18である。図14、図15において、図14に示す最上段キャピラリー-1が最もレーザ光源側のキャピラリーであり、以下数字の順番にレーザ光源から遠ざかるキャピラリーの電気泳動パターンを示しており、図15に示す最下段のキャピラリー-10のいずれの10本のキャピラリーとも十分なS/Nで計測できた。塩基長9を

与えるピークにおいて、S/Nは、キャピラリー-1において237、キャピラリー-4において237、キャピラリー-7において110、キャピラリー-10において140であった（キャピラリー-10でのS/Nがキャピラリー-7のS/Nより大きいのは測定のバラツキと考えられる）。他の蛍光体で標識された成分の電気泳動パターンも図14、15同様に得られており、10本のキャピラリーゲル電気泳動によるDNA塩基配列決定を高感度に実現できた。

【0062】（実施形態4）本実施形態では、断面が梢円形である梢円筒形状キャピラリーを用いた。このキャピラリーを用いることにより、その配列方法によって2つの異なる効果が生まれる。第1の配列方法は、キャピラリー断面の梢円の短径とキャピラリーの配列平面を平行にすることである。この場合、レーザビームのキャピラリーへの入射角が円筒形キャピラリーを用いた場合と比較して小さくなるので、蛍光を検出する光検出系に直接入射する反射光のレーザパワーが減り、背景光信号が減少する。これにより蛍光検出感度が増大する効果が得られる。第2の配列方法は、キャピラリー断面の梢円の長径とキャピラリーの配列平面を平行にすることであ

る。この場合、キャビラリーを密着配列しながら隣り合うキャビラリーの泳動路（キャビラリー内部）どうしの間隔を大きくできるので、お互いのクロストークがなくなるので複数のキャビラリーの独立計測に有利となる。キャビラリーの密着配列は（実施形態3）に示したように、効率的な多数のキャビラリーの同時計測に有効である。次に、第1の配列方法を用いた具体例を示す。

【0063】具体例として、断面が外長径0.75mm（外長半径 $R_1=0.375\text{ mm}$ ）、外短径（外短半径 $R_2=0.1875\text{ mm}$ ）、内長径0.2mm（内長半径 $r_1=0.1\text{ mm}$ ）、内短径0.05mm（内短半径 $r_2=0.025\text{ mm}$ ）の楕円形のキャビラリーを用いた。このキャビラリー断面の内部の面積は、（実施形態1）で使用した外径0.875mm（ $R=0.1875\text{ mm}$ ）、内径0.1mm（ $r=0.05\text{ mm}$ ）の円筒形のキャビラリーの断面の内部の面積と等しい（ $7.85 \times 10^{-3}\text{ mm}^2$ ）。この形状のキャビラリーはポリマイクロ社（米国）によって製造可能である。その他の実験条件は（実施形態1）と同様で、全長50cmのキャビラリーの材質は溶融石英（ $n_s=1.46$ ）を用い、キャビラリー内部は7Mのウレアを含んだ4%T、5%Cの濃度のアクリルアミドゲル（ $n_s=1.36$ ）を充填した。試料注入側のキャビラリー末端より30cmの位置で、長さ10mm、全周にわたり、ポリイミド被覆を除去して蛍光を計測する窓を予め作製してレーザ照射部位とした。

【0064】この10本のキャビラリーゲルの蛍光を計測する部位を、図3、図4と同様に平面状に配列したが、この際に全てのキャビラリーの楕円の短径をキャビラリーの配列平面と平行とし、長径をキャビラリーの配列平面と垂直になるように配列した。この配置方法では、上記したように光検出系に直接入射する反射光の低減に効果がある。キャビラリーの配列ピッチは、楕円の短径と一致させ、密着配列とした。蛍光計測部位のキャビラリー外部は空気（ $n_s=1.00$ ）とした。図3と同様にして、蛍光計測はキャビラリーの配列平面に垂直な方向より、第1レンズ、バンドパスフィルター、第2レンズを介して2次元検出器により行なった。レーザをビーム径0.1mmに集光し、キャビラリー配列体の側方よりキャビラリー配列軸に沿って入射させた。

【0065】この実験条件に対して、（実施形態1）と同様のシュミレーション実験を行なった。図16は、1本のビームコンポーネントの光路を計算した結果である。図16は、蛍光計測部位のキャビラリー軸に対する断面図であり、1番左のキャビラリーが最もレーザ光源側のキャビラリーであり、以下右に行くキャビラリーほどレーザ光源から遠ざかるキャビラリーである。全ての光路の計算は10本のキャビラリーが上記の配列がなされているとして連続的に行なった。本計算実験条件では、レーザビームのキャビラリーによる屈折角が $\Delta\theta \sim 0$ で

あるため、即ち、キャビラリーのレンズ作用が小さいため、各ビームコンポーネントはあまり屈折を受けることなしに、キャビラリー配列中を進行した。全てのビームコンポーネントは10本のキャビラリー全てについて、キャビラリー外部に逸脱することなしに、キャビラリー内部を透過し、キャビラリー内を泳動する試料成分の励起に寄与することが判明した。

【0066】図6と同様に、励起効率の減少の度合のキャビラリーの本数による変化を評価するために、各キャビラリー毎に、キャビラリー内部を透過する光路の長さ（光路長）を求め、この光路長にその位置でのレーザパワーを乗じ、全てのビームコンポーネントについて積算し励起効率とした。

【0067】図17は、このようにして求めた各キャビラリーにおける励起効率を示した（レーザ光源側の1本目のキャビラリーの値により規格化されている）。図17で、各キャビラリーにはレーザ光源側から順番に1から10の番号を付けた。図6と同様に、キャビラリー毎の励起効率はレーザ光源から離れるに従い指数間数的に減少した。10本目のキャビラリーの励起効率は、1本目の53.4%にも及び、この減衰の程度は図6の場合とほとんど等しかった。つまり、キャビラリー1本当たりの平均透過率は $9.3\% = 0.536$ 、本計算実験条件では、24本までのキャビラリーの同時計測が可能であった（ $0.93^{24} = 0.20$ ）。

【0068】一方、光検出系に直接入射する反射光のレーザパワーを10本のキャビラリーについて積算した結果は（実施形態1）の場合と異なり、ゼロであった。これは屈折率が変化する各境界点でのレーザビームの入射角が十分に小さくなつたためである。従つて、円筒形のキャビラリーから楕円筒形のキャビラリーにすることにより、背景光を大幅に削減でき、より高感度に蛍光計測できることが判明した。

【0069】本実施形態で用いた形状寸法以外の楕円筒形キャビラリーを用いても、もちろん同様の効果が得られる。また、（実施形態1、3）で円筒形キャビラリーについて示したように、レーザ照射位置のキャビラリー外部を水等の透明液体で満たすことの効果は、楕円筒形キャビラリーについても同様に得られる。即ち、キャビラリーに入射するレーザビームの反射率が低減することにより、多数のキャビラリーを効率的に同時計測できるようになる。

【0070】（実施形態5）本実施形態では、（実施形態4）の計算実験条件で、各キャビラリーのレーザ照射部分に減反射コーティングを施して計算実験を行なった。アクリルアミドゲル充填前に、楕円筒形キャビラリーの蛍光を計測するための窓（被覆が除去された部分）にフッ化マグネシウム（MgF₂）（屈折率 $n_s=1.38$ ）を184nmの厚さで単層蒸着した。この処理によ

り、ゲル充填後のキャビラリー1本あたりの平均透過率は、93.3%から97.0%に増大した。このとき、レーザ光源より1本目のキャビラリーにおける励起効率に対する10本目のキャビラリーにおける励起効率は、53.4%から76.0%に増大した(0.970°=0.76)。これに伴い、励起効率の減少を20%までとする同時計測可能な最大キャビラリー本数は24本から53本まで増大した(0.970°=0.21)。

【0071】本実施形態で用いたキャビラリーのレーザ照射部分に減反射のコーティングを(実施形態1)で説明した円筒形状キャビラリーや、後述する(実施形態6)の角筒形状キャビラリーに応用しても、もちろん同様の効果が得られる。また、コーティングの方法、種類は本実施形態で用いたものに限るものではない。

【0072】(実施形態6) 本実施形態では、図18に示すような角筒形状キャビラリー1を用いる。角筒形状キャビラリーの断面は、外周が一边0.2mmの正方形、内周が一边0.1mmの正方形である。この形状のキャビラリーは、ボリマイク社(米国)によって製造可能である。その他の実験条件は(実施形態1)と同様で、全長50cmのキャビラリーの材質は溶融石英($n_s=1.46$)を用い、キャビラリー内部に7Mのウレアを含んだ4%T、5%Cの濃度のアクリルアミドゲル1.0($n_s=1.36$)を充填した。試料注入側のキャビラリー末端より30cmの位置で、長さ10mm、全周にわたり、ポリイミド被覆を除去して蛍光を計測する窓を予め作製してレーザ照射部位とした。このキャビラリーゲル10本の蛍光を計測する窓の部位を0.4mmピッチに揃えてガラス平板5上に固定して平面状に配列させた。蛍光を計測する位置のキャビラリー外部は空気($n_s=1.00$)とした。図3と同様に、蛍光計測はキャビラリーの配列平面に垂直な方向より、第1レンズ、バンドパスフィルター、第2レンズを介して2次元検出器により行なった。図18は、蛍光を計測する部分のキャビラリー軸に対する断面図であり、レーザビーム径0.1mmに集光しビーム2として、キャビラリー配列体の側方よりキャビラリー配列軸に沿って入射させた。

【0073】本計算実験条件では、レーザビームの各キャビラリーへの入射角は常にゼロであるため、レーザビームの屈折の影響は無視できる。屈折率が変化する各境界点での反射の影響を考慮すると、キャビラリー1本あたりの平均透過率は92.9%と高効率であり、レーザ光源から10本目のキャビラリーにおける励起効率は、1本目のキャビラリーにおける励起効率51.5%であった(0.929°=0.515)。検出器の感度とダイナミックレンジの関係から同時計測可能な励起効率の減少を20%までとすると、本計算実験条件では、22本までのキャビラリーの同時計測が可能であることが判明した(0.929°=0.21)。

【0074】一方、光検出系に直接入射する反射光のレーザパワーを10本のキャビラリーについて積算した結果は、(実施形態4)の場合と同様に、ゼロであった。これは屈折率が変化する各境界点でのレーザビームの入射角が常にゼロであるためである。従って、円筒形状のキャビラリーから角筒形状のキャビラリーにすることにより、背景光を大幅に削減でき、より高感度に蛍光計測できる。

【0075】(実施形態7) 本実施形態では、(実施形態6)の計算実験条件において、蛍光を計測する位置のキャビラリー外部を水($n_s=1.33$)とした。その他の計算実験条件は(実施形態6)と同一とした。本計算実験条件では、キャビラリー外部の屈折率とキャビラリーの屈折率との差が、(実施形態6)の場合よりも小さくなつたために、屈折率が変化する各境界点でのレーザビームの反射率が大幅に低減した。その結果、キャビラリー1本あたりの平均透過率は、92.9%から99.3%に増大した。このとき、レーザ光源より1本目のキャビラリーにおける励起効率は、51.5%から93.9%に増大した(0.993°=0.939)。これに伴い、励起効率の減少を20%までとする同時計測可能な最大キャビラリー本数は、22本から230本まで増大した(0.993°=0.20)。

【0076】次に、(実施形態6)の計算実験条件において、蛍光を計測する位置のキャビラリー外部を石英ガラス($n_s=1.46$)とした。本計算実験条件は、複数の角筒形状キャビラリーの計測部分を溶着して実現してもよいし、石英ガラスのブロックにキャビラリーの内部に相当する穴を複数あけて実現してもよい。その他の計算実験条件は(実施形態6)と同一とした。本計算実験条件では、キャビラリー外部の屈折率とキャビラリーの屈折率との差が、(実施形態6)の場合よりも小さくなつたために、屈折率が変化する各境界点でのレーザビームの反射率が大幅に低減した。その結果、キャビラリー1本あたりの平均透過率は92.9%から99.8%に増大した。このとき、レーザ光源より1本目のキャビラリーにおける励起効率は、51.5%から98.2%に増大した(0.998°=0.982)。これに伴い、励起効率の減少を20%までとする同時計測可能な最大キャビラリー本数は、26本から804本まで増大した(0.998°=0.20)。

【0077】本実施形態では、蛍光を計測する位置のキャビラリー外部を水あるいは石英ガラスで満たしたが、これ以外の液体あるいは固体であっても、それが透明材料であれば同様の効果を発揮する。

【0078】(実施形態8) 本実施形態では、(実施形態6)の計算実験条件において、図19に示すように、50 レーザビーム2が10本のキャビラリーを透過した位置

に全反射ミラー15を配置し、レーザビーム2を折り返して逆経路で再び10本のキャビラリーを透過させた。その他の計算実験条件は(実施形態6)と同一とした。

【0079】N本のキャビラリーを配列したとき、レーザ光源からn番目($n \leq N$)のキャビラリーにおける励起効率 T_{eff}

$$T_{eff} = T_{nm} \uparrow (n-1) + T_{nm} \uparrow (2N-n)$$

(数12)の第1項は、レーザ光源から離れる方向に進行するレーザビームによる励起を表わし、第2項は、全反射ミラーで折り返してレーザ光源に近づく方向に進むレーザビームによる励起を表わす。(数12)は(実施形態6)の場合の1本目のキャビラリーにおける励起効率により規格化されており、 $T_{eff} > 1$ であることは、

(実施形態6)の場合の1本目のキャビラリーにおける※

$$T_{eff,n} = T_{nm} \uparrow (N-1) + T_{nm} \uparrow (N)$$

(数13)は、(実施形態6)の場合、即ち、全反射ミラーを用いない場合の約2倍であることを意味する。本計算実験条件では、 $N=10$ 、 $T_{nm}=0.929$ であるから、10本目のキャビラリーにおける励起効率は、 51.5% から 99.4% に増大した($0.929^2 = 0.994$)。これに伴い、励起効率の減少を20%までとする同時計測可能な最大キャビラリー本数は22本から32本まで増大した($0.929^2 = 0.929^2 = 0.20$)。本実施形態で示した手法を円筒形状キャビラリーや楕円筒形状キャビラリーに適用しても、もちろん同様の効果が得られる。

【0082】(実施形態9)本実施形態では、(実施形態6)の計算実験条件において、図20に示すように、レーザビーム2をバーフミラー16等のビームスプリッタ \star で分割した場合 $T_{eff} = T_{nm} \uparrow (n-1) + T_{nm} \uparrow (N-n)$

(数14)の第1項、第2項は、それぞれ分割された2本のレーザビームによる励起を示す。(数14)は(実施形態6)の場合の1本目のキャビラリーにおける励起効率により規格化されている。(数14)によれば、励起効率 T_{eff} は $n = (N+1)/2$ 、即ち、複数のキャビラリーが並ぶ場合 $T_{eff,n} = T_{nm} \uparrow ((N+1)/2)$

(数15)は、(実施形態6)の場合、即ち、レーザビームを分割しない場合の励起効率の最小値 $T_{nm} \uparrow (n-1)$ ($n=N$ のとき)($T_{nm} \leq 1$)より明らかに大きい。本計算実験条件では、 $N=10$ 、 $T_{nm}=0.929$ であるから、励起効率は5本目のキャビラリーで最小となり、 71.8% である。これに対して(実施形態6)では、励起効率は10本目のキャビラリーで最小となり、 51.5% であった。従って、本手法によって多数のキャビラリーの同時計測をより効率的に行なうことができる事が判明した。これに伴い、励起効率の減少を20%までとする同時計測可能な最大キャビラリー本数は、22本から43本まで増大した($0.929^2 = 0.921$)。本実施形態で示した手法を円筒形状キャビラリーや楕円筒形状キャビラリーに適用しても、もちろん同様の効果が得られる。

$$T_{eff} = T_{nm} \uparrow (n-1) + T_{nm} \uparrow (N-n)$$

*起効率 T_{nm} は、レーザビームのキャビラリー1本あたりの平均透過率を T_{nm} とすると、(数12)で表わされる(なお、以下の説明では、 $X \uparrow (Y)$ は、 X の Y 乗を表すものとする)。

【0080】

…(数12)

※励起効率以上の励起効率となることを意味している。

(数12)によれば、励起効率 T_{eff} は(実施形態4)と同様に n に関して単調減少であり、 $n=N$ 、即ち、レーザ光源から最も離れたキャビラリーで最小となる。このときの励起効率 $T_{eff,n}$ は、(数13)となる。

【0081】

…(数13)

★ターで2本に分割した後、反射ミラー17-1、17-2、17-3を使用して、10本のキャビラリー配列したキャビラリー配列体の平面方向の2つの側面の両側から対向させて照射した。両側から照射するレーザビームはともにビーム径を0.1mmにレンズ(図示せず)で絞り、互いに同軸になるように調整した。その他の計算実験条件は(実施形態6)と同一とした。N本のキャビラリーを平面上に配列したとき、キャビラリーの配列の片側からn番目($n \leq N$)のキャビラリーにおける励起効率 T_{eff} は、レーザビームのキャビラリー1本あたりの平均透過率を T_{nm} とすると、(数14)で表わされる。

【0083】(実施形態10)本実施形態では、(実施形態6)の計算実験条件において、図21に示すように、レーザビーム2をバーフミラー16等のビームスプリッタ \star で分割した場合 $T_{eff} = T_{nm} \uparrow (n-1) + T_{nm} \uparrow (N-n)$

☆ビラリーが配列する配列中心置のキャビラリーで最小となり、他のキャビラリーにおける励起効率は上記の配列中心位置に関して対称である。励起効率の最小値 $T_{eff,n}$ は、(数15)となる。

【0084】(実施形態11)本実施形態では、(実施形態6)の計算実験条件において、図22に示すように、レーザビーム2をバーフミラー16等のビームスプリッタ \star で分割した場合 $T_{eff} = T_{nm} \uparrow (n-1) + T_{nm} \uparrow (N-n)$

◆ん同様の効果が得られる。

【0085】(実施形態10)本実施形態では、(実施形態6)の計算実験条件において、図21に示す用に、2台のレーザ光源18-1、18-2を用い、レーザビーム2-1、2-2を、10本のキャビラリーが配列したキャビラリー配列体の2つの側面の両側から対向させて照射した。両レーザビーム2-1、2-2は、ともにビーム幅を0.1mmにレンズ(図示せず)で絞り、互いに同軸になるように調整した。その他の計算実験条件は(実施形態6)と同一とした。N本のキャビラリーを配列したとき、キャビラリー配列の片側からn番目($n \leq N$)のキャビラリーにおける励起効率 T_{eff} は、レーザビームのキャビラリー1本あたりの平均透過率を T_{nm} とすると、(数16)で表わされる。

【0086】(実施形態11)本実施形態では、(実施形態6)の計算実験条件において、図22に示す用に、2台のレーザ光源18-1、18-2を用い、レーザビーム2-1、2-2を、10本のキャビラリーが配列したキャビラリー配列体の2つの側面の両側から対向させて照射した。両レーザビーム2-1、2-2は、ともにビーム幅を0.1mmにレンズ(図示せず)で絞り、互いに同軸になるように調整した。その他の計算実験条件は(実施形態6)と同一とした。N本のキャビラリーを配列したとき、キャビラリー配列の片側からn番目($n \leq N$)のキャビラリーにおける励起効率 T_{eff} は、レーザビームのキャビラリー1本あたりの平均透過率を T_{nm} とすると、(数16)で表わされる。

(実施形態9)の場合において得られる(数14)で示される励起効率の2倍の励起効率で複数のキャビラリー内を泳動する試料成分を励起できる。(数16)の第1項、第2項は、それぞれ2台のレーザ光源からのレーザビームによる励起を示す。(数16)は(実施形態6)の場合の1本目のキャビラリーにおける励起効率により規格化されており、 $T_{\text{eff}} > 1$ であることは、(数1)

$$T_{\text{eff}} = 2 \cdot T_{\text{m}} \uparrow ((N+1)/2)$$

これは(実施形態6)の場合、即ち、1台のレーザ光源を用いた場合の励起効率の最小値 $T_{\text{m}} \uparrow (n-1)$ ($n=N$ のとき) ($T_{\text{m}} \leq 1$)より明らかに大きい。

本計算実験条件では、 $N=10$ 、 $T_{\text{m}}=0.929$ であるから、励起効率は5本目のキャビラリーで最小となり、143.7%である。これに対して(実施形態4)では、励起効率は10本目のキャビラリーで最小となり、51.5%であった。従って、本手法によって多数のキャビラリーの同時計測をより効率的に行うことができる事が判明した。これに伴い、励起効率の減少を20%までとする同時計測可能な最大キャビラリー本数は、22本から63本まで増大した($2 \times 0.929^3 = 0.20$)。本実施形態で示した手法を円筒形状キャビラリーや梢円筒形状キャビラリーに適用しても、もちろん同様の効果が得られる。

【0086】(実施形態1-1) 本実施形態では、図22に示すように、2種類の形状の異なるキャビラリーを接続して1つの電気泳動路を形成し、これを複数本平面上に配列して同時に各キャビラリーからの蛍光を計測する手法の具体例を示す。10本のキャビラリーのそれぞれの電気泳動分離部分は、断面が外径0.2mm ($R=0.1\text{ mm}$)、内径0.1mm ($r=0.05\text{ mm}$)の円形である分離用キャビラリーの円筒形状キャビラリー19を用い、蛍光を計測する部分のキャビラリーは、断面が外周が一辺0.2mmの正方形、内周が一辺0.1mmの正方形である計測用キャビラリーの角筒形状キャビラリー20を用いた。各電気泳動路を構成する分離用キャビラリーと計測用キャビラリーとを接続し、ガラス平面上に0.2mmピッチで配列させた。10組の接続された分離キャビラリーと計測キャビラリーの中心軸は、それぞれ一致するようにした。両キャビラリーの材質はいずれも石英($n=1.46$)で、接続面はあらかじめ研磨してフラットにし、変性剤として7Mのウレアを含んだ4%T(Total monomer concentration)、5%C(Crosslinking material concentration)の濃度のアクリルアミドを注入した後ゲル化させた。キャビラリーの接続部分は電気的に断線しないよう緩衝液(図示せず)に浸し、分離キャビラリーを泳動してきた試料分離成分が、そのまま対向する計測キャビラリーを泳動するようにした。分離キャビラリーは長さ25cm、計測キャビラリーは長さ15cmとした。計50

*4)で示される励起効率以上の励起効率になることを意味している。(数16)によれば、励起効率 T_{eff} は $n=(N+1)/2$ 、即ち、複数のキャビラリーの配列中心位置に位置するキャビラリーで最小となり、他のキャビラリーにおける励起効率は中心位置に関して対称である。励起効率の最小値 T_{min} は、(数17)となる。

…(数17)

測キャビラリーが接続された位置から5cmの位置で、長さ10mm、全周にわたり、計測キャビラリーのポリイミド被覆は予め除去して、蛍光を計測する窓とし、この位置にレーザを照射した。つまり泳動距離は25+5=30cmとした。これら以外の計算実験条件は(実施形態6)と同一とした。つまり、キャビラリー1本あたりの平均透過率は92.9%の高効率であり、レーザ光源から10本目のキャビラリーにおける励起効率は1本目のキャビラリーの51.5%であった($0.929^3 = 0.515$)。検出器の感度とダイナミックレンジの関係から同時計測可能な励起効率の減少を20%までとすると、本計算実験条件で22本までのキャビラリーの同時計測が可能であること判明した($0.929^3 = 0.21$)。

【0087】一般に、キャビラリーは、外径が大きく内径が小さいほど、即ち肉厚になるほどガラスの体積には比例して高価になる。また、梢円筒形状や角筒形状キャビラリーは円筒形状キャビラリーと比較して高価になる。つまり、本実施形態で示したように、多数のキャビラリーの同時計測に有利であるが、高価なキャビラリーを計測キャビラリーに用い、安価なキャビラリーを分離キャビラリーに用いればランニングコストを下げる事ができる。また、分離キャビラリーと計測キャビラリーとの脱着が可能となるので、計測終了後に分離キャビラリーのみを交換して次の計測を行えば、更にコストを低減できる。このことは本実施形態のもうひとつの効果である。もちろん、上記以外の形状のキャビラリーを組み合わせても同様の効果が得られる。

【0088】以上の実施形態では、電気泳動分離媒体に全てアクリルアミドゲルを用いたが、これ以外の分離媒体として溶液状のものを使用してもよいし、ポリマーを使用してもよい。ポリマーには、アクリルアミドおよびその誘導体のポリマーや、セルロース及びその誘導体等の多糖類のポリマーがある。キャビラリー中のポリマーを交換可能な状態にすれば、キャビラリー本体を繰り返し利用できるのでコストや労力を低減できる。

【0089】以上の実施形態では、キャビラリーの材質に全て溶融石英を用いたが、もちろんこれ以外の材質を用いてもよい。特にガラスは様々な屈折率の材質が利用でき、キャビラリーの形状と同様に、キャビラリーのレンズ作用をコントロールできる。つまり、より効率的な多数のキャビラリーの同時計測が可能である。また、キ

キャピラリーの形状は円筒、梢円筒、角筒に限って示したが、もちろんこれ以外の形状であってもかまわない。さらに、本発明は、以上の実施形態に限定されるものではなく、以上の実施形態で説明した特徴事項を組み合わせてもよいことは、言うまでもない。

【0090】キャピラリーゲル電気泳動は平板ゲル電気泳動と比較して高電圧を印加できるので高速分析が可能である。このキャピラリーを複数本並べて一度に分析するマルチフォーカスキャピラリーアレイ電気泳動は多数の試料を同時に高速分析できる高スループットな分析手法である。試料のキャピラリーへの導入は、キャピラリーアレイ電気泳動では電界注入により行えるので、平板ゲル電気泳動と比較して非常に簡単になる。また、キャピラリーに直接レーザを照射して蛍光計測するオンカラム計測は、電気泳動分解能を低下させる要因が少なく、また励起効率が良いため高感度な蛍光計測手法である。

【0091】

【発明の効果】本発明では、オンカラム蛍光計測を行なながら、レーザビームのスキャンを行わずに、複数のキャピラリーを実質的に同時にレーザ照射し、一括して蛍光計測できるので、高感度、高速、高スループットな分析を達成できる。しかも、装置構成やキャピラリー配列は非常に簡単であり、実用的である。電気泳動媒体にポリマー等の詰め替え可能なものを使用すれば、キャピラリーアレイそのものは動かさずに繰り返し利用できるので、コストや労力を大幅に削減できる実用面での効果が甚大である。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のキャピラリーアレイのオンカラム計測を行なうキャピラリーアレイ電気泳動装置の主要部の構成を示す、(a) 平面図、(b) 断面図。

【図2】本発明のキャピラリーアレイ中のレーザビームの光路を示す断面図。

【図3】本発明の実施形態1の装置構成を示す図。

【図4】本発明の実施形態1での蛍光を計測する部分の断面図。

【図5】本発明の実施形態1でのキャピラリーアレイ中の光路の計算結果を示す図。

【図6】本発明の実施形態1でのキャピラリーの位置と励起効率の関係を示す図。

【図7】本発明の実施形態1でのキャピラリー外径／内径の比率と励起効率の関係を示す図。

【図8】本発明の実施形態1でのキャピラリー外径／内径の比率と同時計測可能なキャピラリー本数の関係を示す図。

*す図。

【図9】本発明の実施形態1でのキャピラリー外径／内径の比率と光検出系に直接入射する反射光強度の計算結果を示す図。

【図10】本発明の実施形態2でのキャピラリー配列間隔と励起効率の関係を示す図。

【図11】本発明の実施形態3の装置の主要な構成を示す図。

【図12】本発明の実施形態3での蛍光を計測する部分の断面図。

【図13】本発明の実施形態3で得られた電気泳動パターンを例を示す図。

【図14】本発明の実施形態3で得られた電気泳動パターンを例を示す図。

【図15】本発明の実施形態3で得られた電気泳動パターンを例を示す図。

【図16】本発明の実施形態4のキャピラリーアレイ中の光路の計算結果を示す図。

【図17】本発明の実施形態4でのキャピラリー位置と励起効率の関係を示す図。

【図18】本発明の実施形態6の蛍光を計測する部分の断面図。

【図19】本発明の実施形態8の蛍光を計測する部分の断面図。

【図20】本発明の実施形態9の蛍光を計測する部分の断面図。

【図21】本発明の実施形態10の蛍光を計測する部分の断面図。

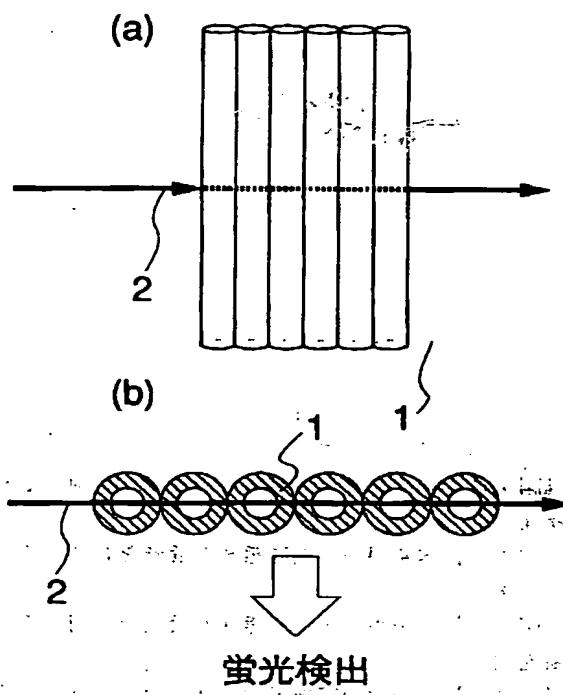
【図22】本発明の実施形態11の蛍光を計測する部分の断面図。

【符号の説明】

1…キャピラリー、2…レーザ、3…入射レーザのキャピラリー配列軸からのずれの距離、4…キャピラリー配列軸、5…ガラス平面、6…第一レンズ、7…フィルター、8…第二レンズ、9…二次元CCDカメラ、10…アクリルアミドゲル、11…空気、12…蛍光計測セル、13…像分割プリズムおよび組み合わせフィルター、14…水、15…全反射ミラー、16…ハーフミラー、17-1、17-2、17-3…反射ミラー、18-1、18-2…レーザ光源、2-1、2-2…レーザビーム、19…分離用キャピラリーの円筒形状キャピラリー、20…計測用キャピラリーの角筒形状キャピラリー。

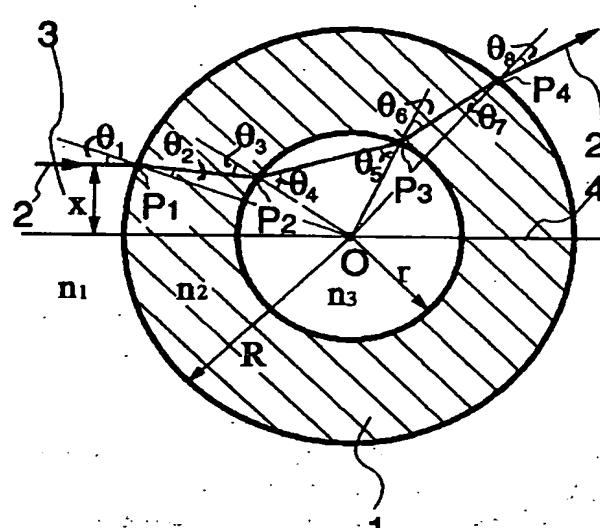
【図1】

図1



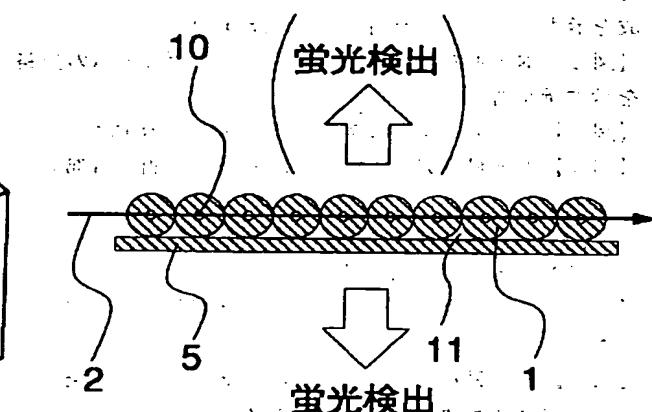
【図2】

図2



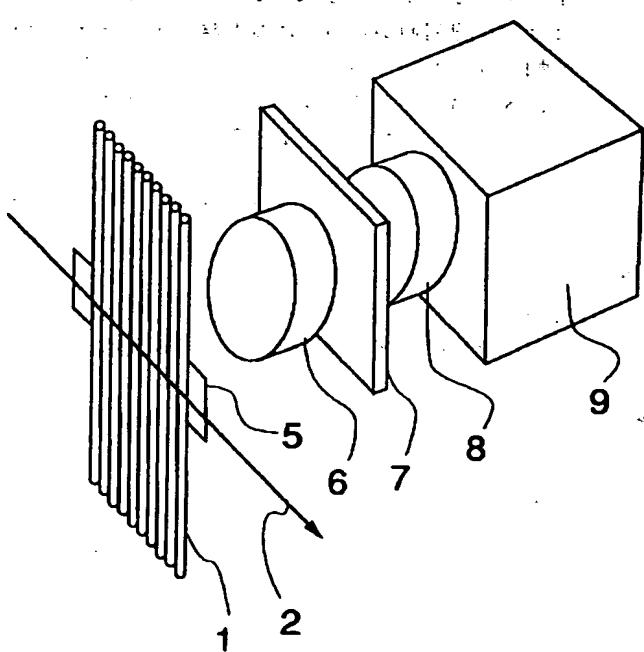
【図4】

図4



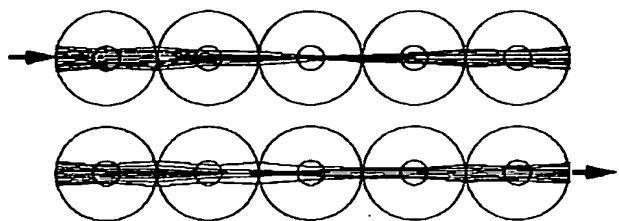
【図3】

図3



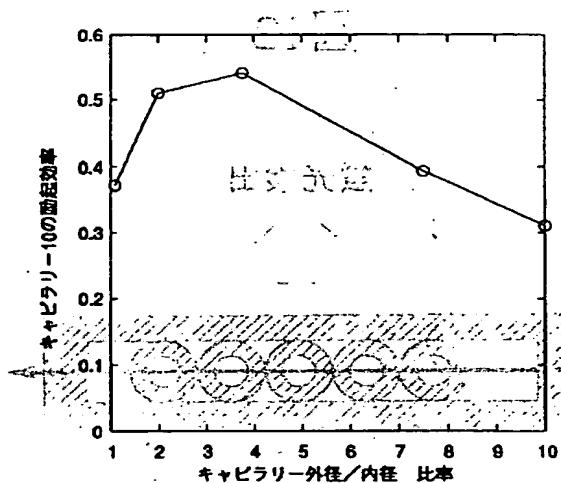
【図5】

図5



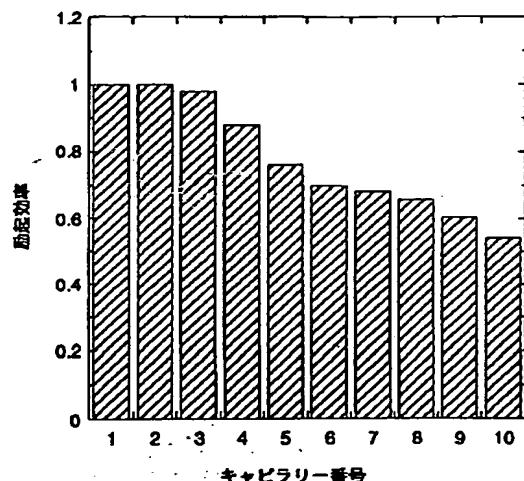
【図7】

図7



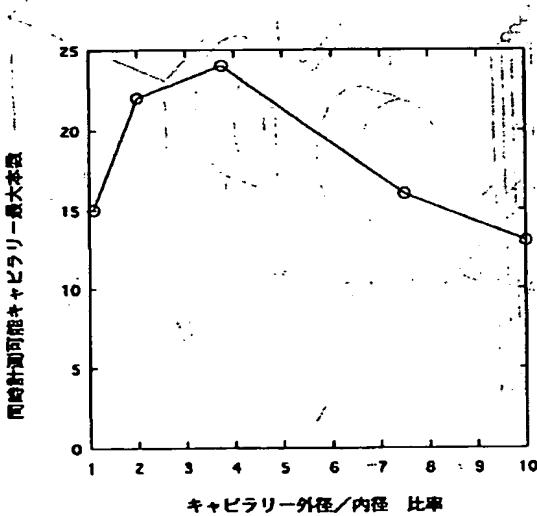
【図6】

図6



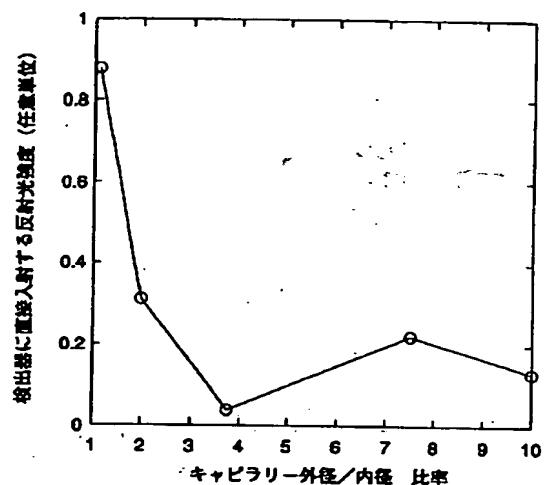
【図8】

図8



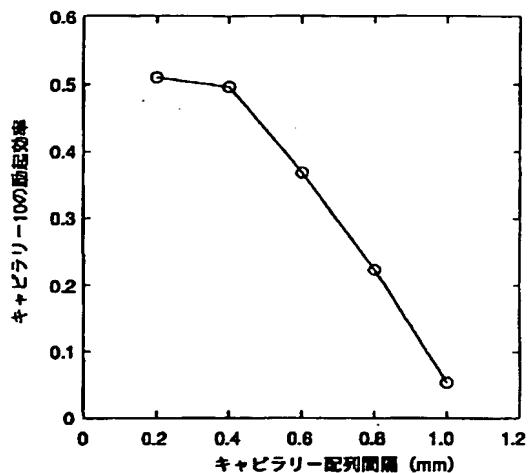
【図9】

図9



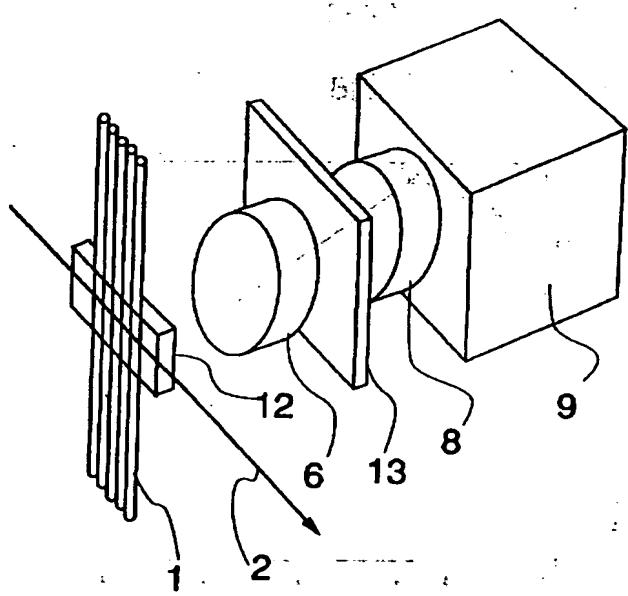
【図10】

図10



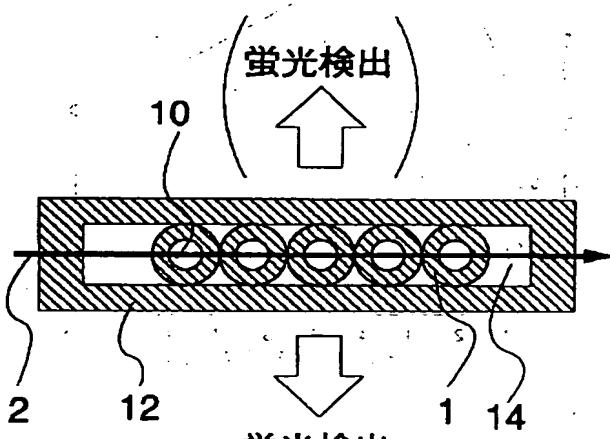
【図11】

図11



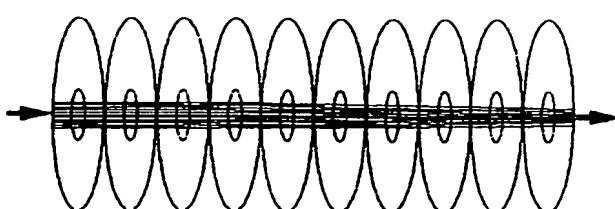
【図12】

図12



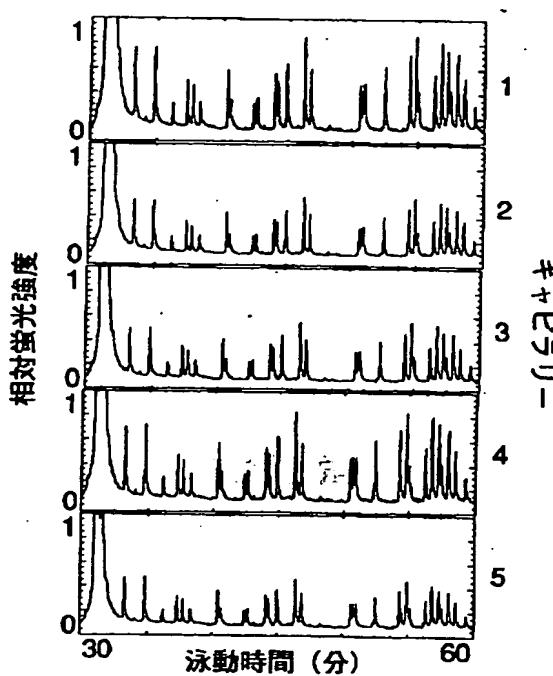
【図16】

図16



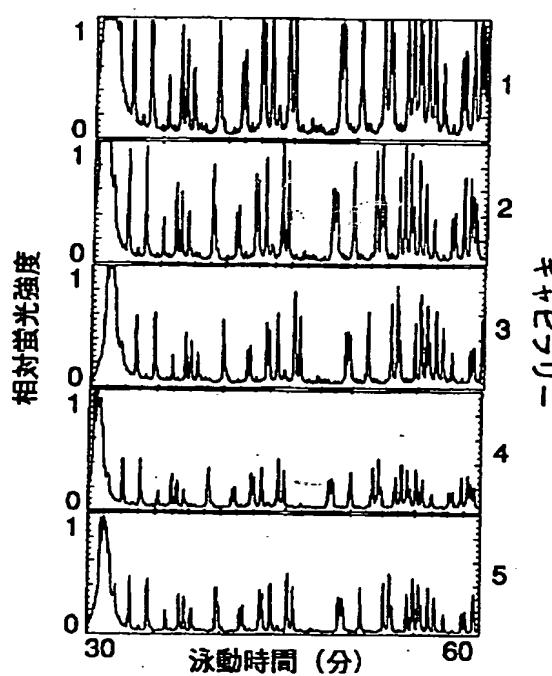
【図13】

図13



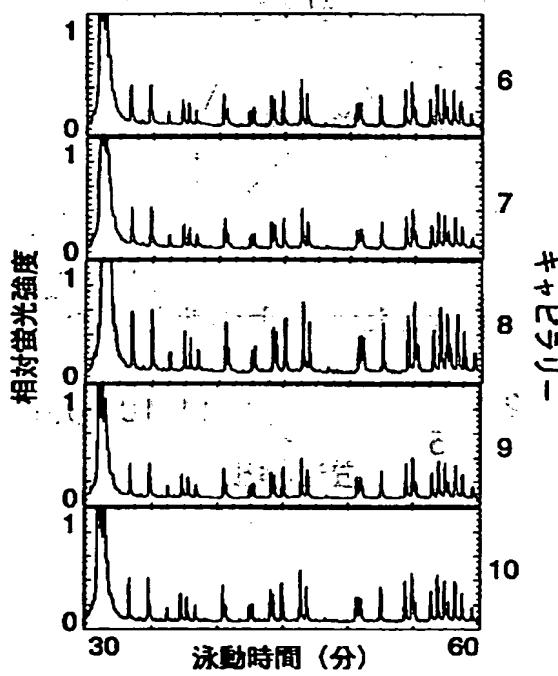
【図14】

図14



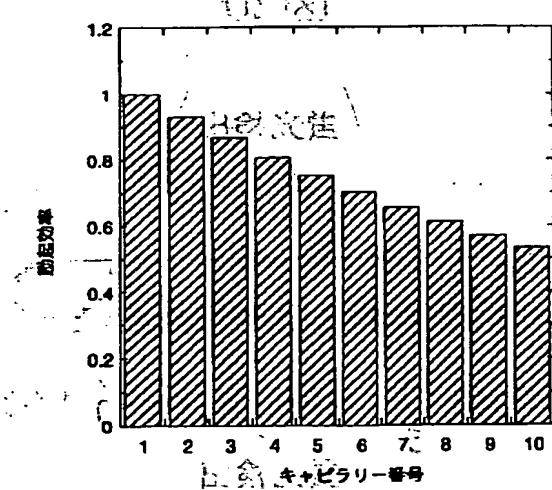
【図15】

図15



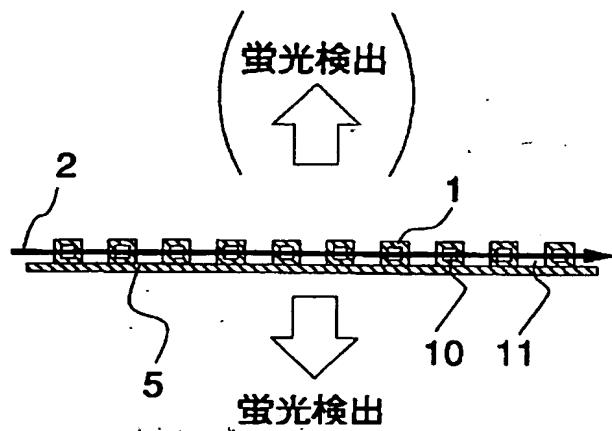
【図17】

図17



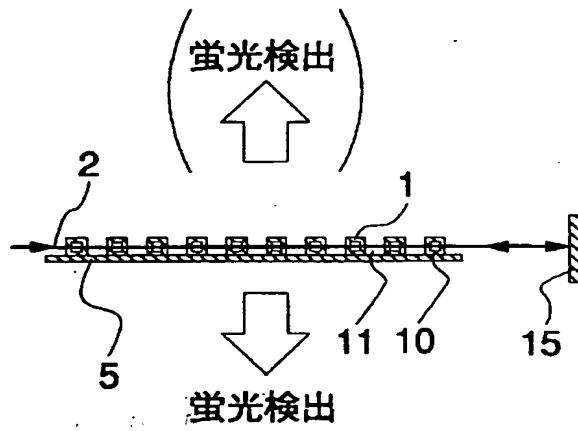
【図18】

図18



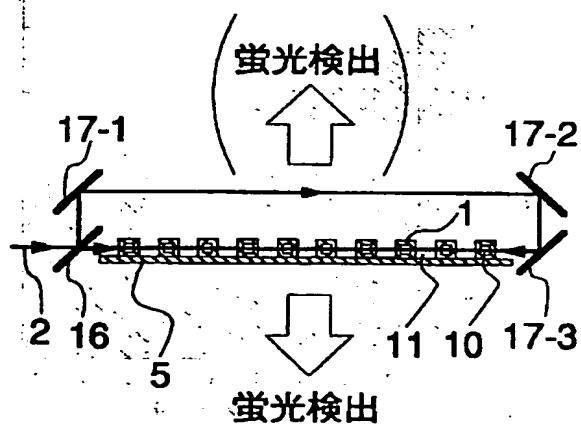
【図19】

図19



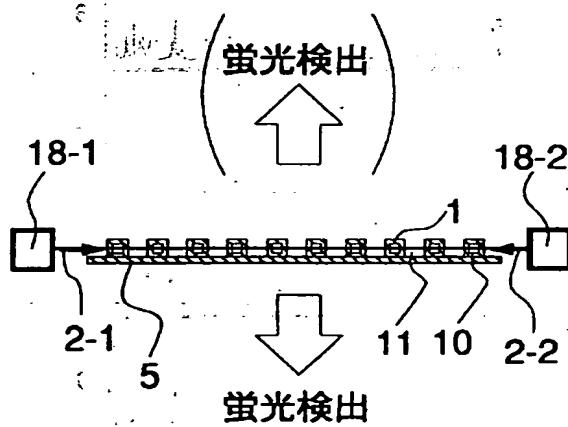
【図20】

図20



【図21】

図21



【図22】

図22

